

L'HÉMATOPOIÈSE

BMC 423

Julien FELLAH

Hématopoïèse : ensemble des mécanismes qui assurent le remplacement régulé et continu des cellules sanguines

Sang : cellules matures des différentes lignées à taux constant et ayant une durée de vie limitée

	Nombre 10^{12}	Durée de vie	Production/j en 10^9
GR	20	120 j	200
PN	0,5	24 h	50
PLQ	1	7 j	100



L'hématopoïèse se déroule à partir d'une population de cellules rares et indifférenciées :

→ Les cellules souches hématopoïétiques (C.S.H.)

Les compartiments hématopoïétiques

4 compartiments:

LES CSH

Multipotentes

LES PROGÉNITEURS

Cellules engagées dans un lignage cellulaire

LES PRÉCURSEURS

Cellules qui se divisent et se maturent

LES CELLULES MATURES

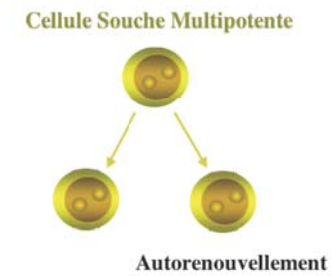
Cellules fonctionnelles qui passent dans le sang

Les Cellules Souches Hématopoïétiques

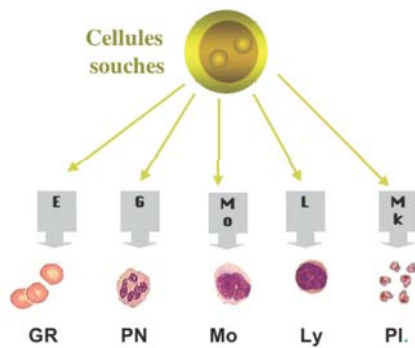
2 propriétés fondamentales

1/ L'autorenouvellement : capable de se diviser à l'identique sans se différencier

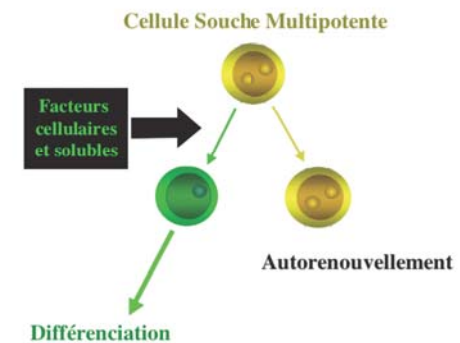
→ maintien et amplification du pool de CSH



2/ Multipotence: capacité de se différencier en n'importe quelle cellule du sang



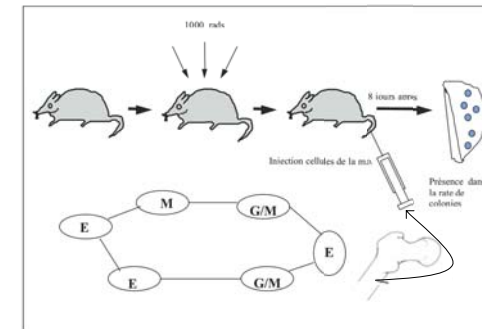
Engagement dans une voie de différenciation par division asymétrique



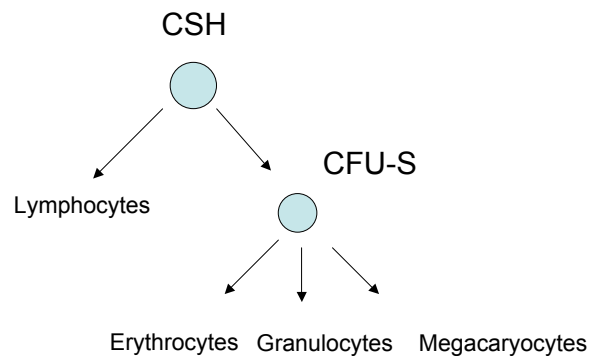
Caractéristiques des cellules souches hématopoïétiques

- Cellules très rares (0,01% à 0,1% des cellules de la m.o.)
- Pas de marqueurs spécifiques
- Non reconnaissable morphologiquement
- 90% en G0 (stade quiescent)
- Résistent à la congélation (-196°C)

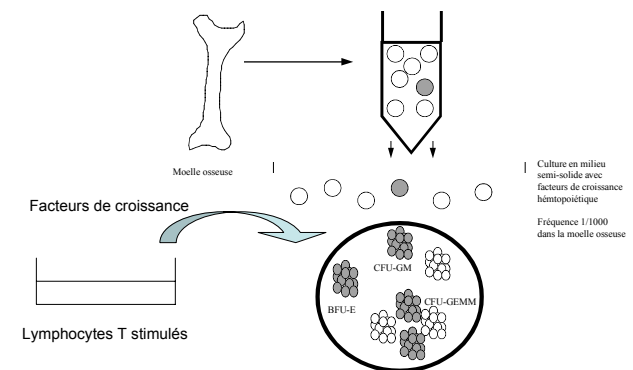
Première mise en évidence des CSH chez la souris Expérience de Till et Mc Culloch (1961)



Chaque colonie est issue d'une seule cellule de la m.o appelée
CFU-S : Colony Forming Unit in the Spleen



Mise en évidence des CSH par culture des cellules de m.o. en milieu semi-solide . Expérience de Metcalf (1966)



Mise en évidence des CSH chez l'homme

Apport de la pathologie: clonalité des tumeurs

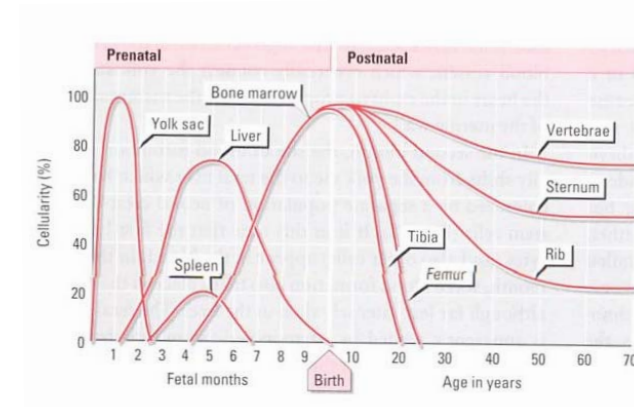
Exemple de la L.M.C. (leucémie myéloïde chronique)

→ toutes les cellules de la lignée myéloïde (GR-PN-macrophage-Megacaryocytes) et les lymphocytes B présentent la même anomalie chromosomique :

Le chromosome Philadelphie qui résulte d'une translocation entre le chr 9 et le chr 22.

Territoires où se déroule l'hématopoïèse

→ Variation au cours du développement

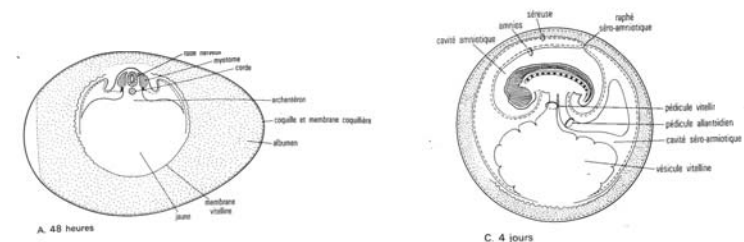


Où sont générées les CSH chez l'embryon?

Travaux réalisés chez le poulet
(Nicole le Douarin et Françoise Dieterlin)

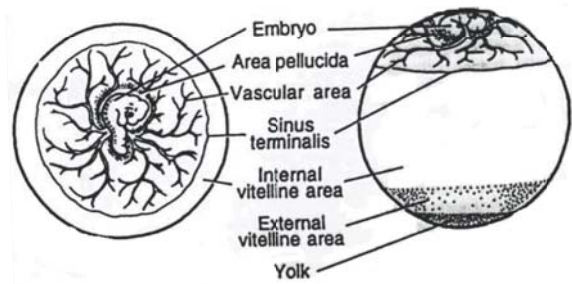
Œufs d'oiseaux deux régions:

→ blanc d'œuf (l'albumen) et jaune d'œuf où se développe l'embryon



→ Aires embryonnaires et extra-embryonnaires

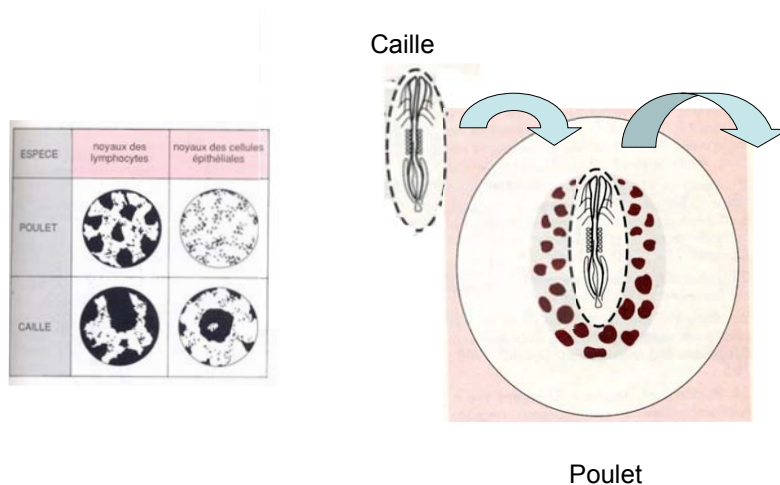
Dans l'aire extra-embryonnaire (sac vitellin) apparition des premiers vaisseaux sanguins → Ilôts sanguins (1^{er} globules rouges)



D'où proviennent les CSH responsables de la formation de ces premiers globules rouges

→ Aire embryonnaire ou extra-embryonnaire?

Utilisation des greffes caille-poulet (chimères)



Observations des coupes au microscope:

→ 7^{ème} jour: GR de type poulet

À partir 10^{ème} jour: GR et lymphocytes de type caille

2 sites de production de CSH qui se succèdent:

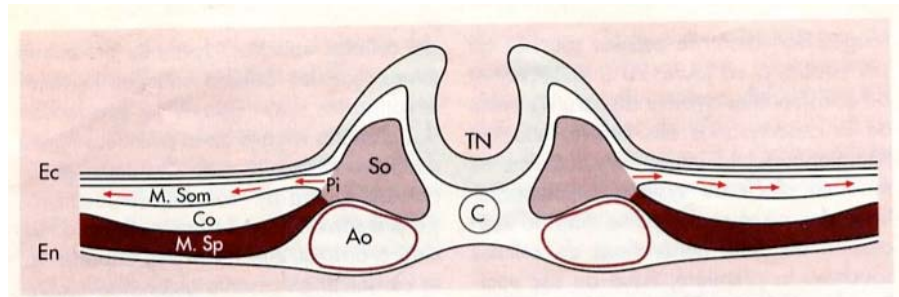
- **Sac vitellin** : hématopoïèse primitive
- **Embryon** qui donne les CSH qui colonisent les organes hématopoïétiques (moelle osseuse, thymus)

→ Hématopoïèse définitive

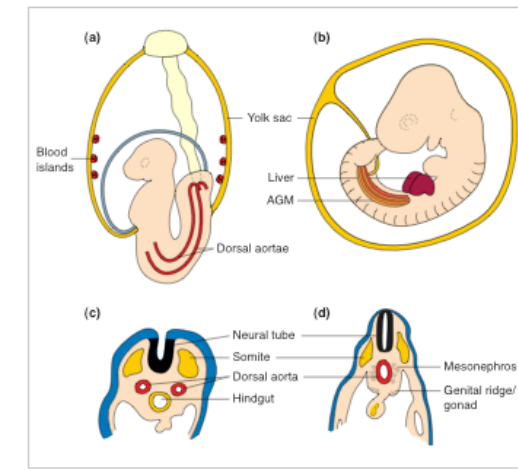
Territoire embryonnaire = **Splanchnopleure para-aortique**

Se transforme en un territoire appelé **AGM**
aorte-gonado-mesonephros

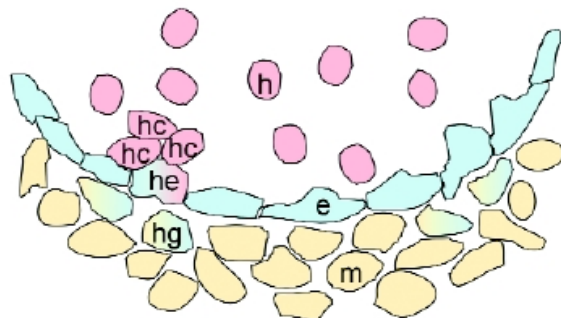
(comprend le plancher de l'aorte dorsale, les ébauches des crêtes génitales et l'ébauche du rein)



Mêmes successions d'événements chez les mammifères
 avec deux territoires de production des CSH

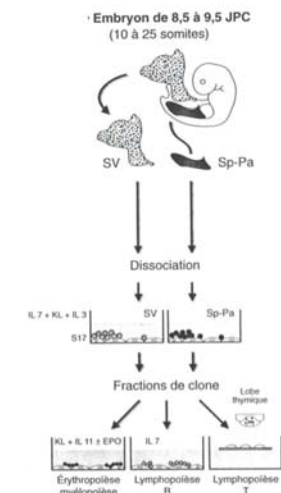


Les CSH de l'aorte dorsale



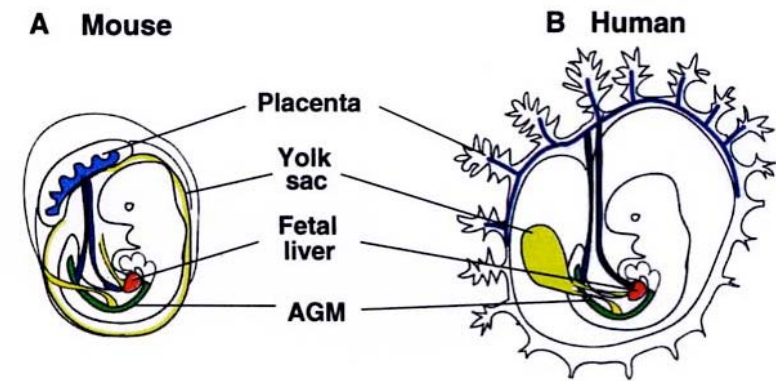
Expériences chez la souris réalisées par A. Cumano

→ 2 générations de CSH qui se succèdent au cours de la vie embryonnaire



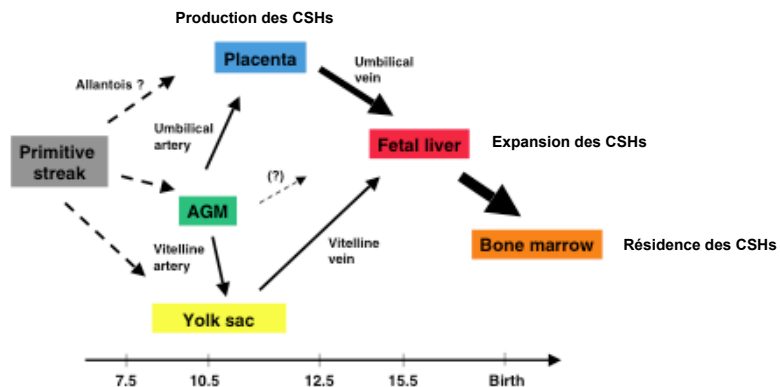
	Sac Vitellin		AGM	
	C. Myéloïdes	C. Lymphoïdes	C. Myéloïdes	C. Lymphoïdes
7j-8j	+	-	+	+
9j-10j	+	+	+	+

Le placenta : nouveau site contenant des CSH



Development 2006

Succession de territoires hématopoïétiques



Development 2006

Caractérisation des CSHs de la moelle osseuse

Chez la souris; Experience d'I. Weissman

Utilisation d'anticorps monoclonaux et du tri cellulaire par cytométrie en flux

Prélèvement des cellules de la m.o

→ élimination des cellules matures:

- Ac anti CD4, anti-CD8 et anti CD3: lymphocytes T
- Ac anti B220: Lymphocytes B
- Ac anti-Mac-1: Macrophages et cellules NK
- Ac anti-GR20: granulocytes
- Ac anti-Ter 119: Globules rouges

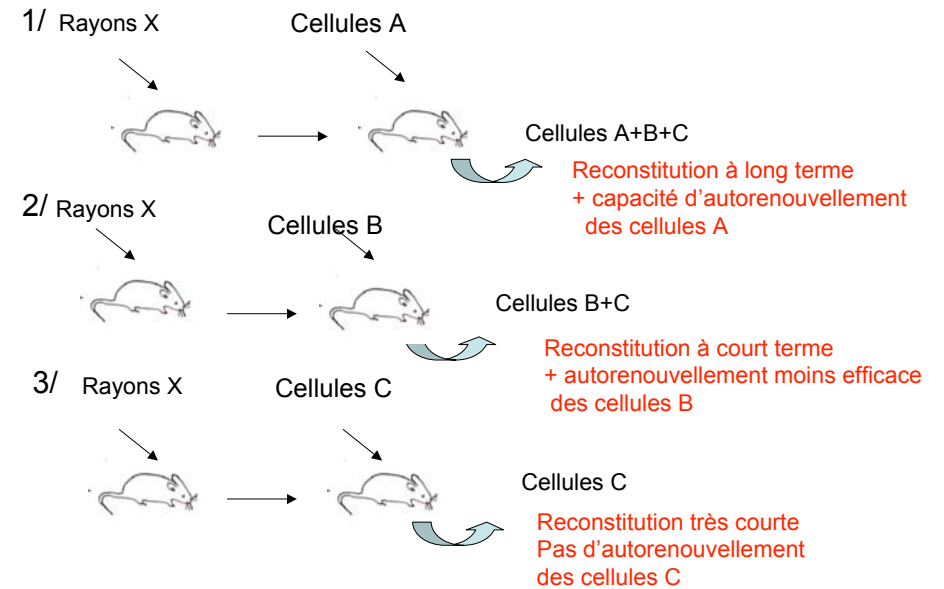
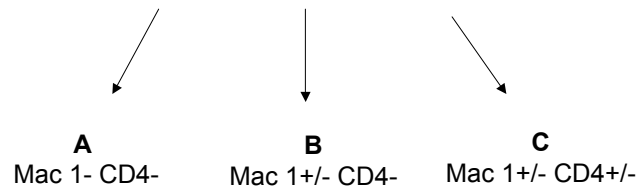
→ Cellules sans marqueurs de différenciation : cellules LIN-

Utilisation d'autres anticorps

→ Permet d'isoler une population de cellules

Thy1⁺/ - Sca1⁺ cKIT⁺ LIN⁻

→ 0,02% des cellules de la m.o. = CSH



Potentialité de reconstitution A > B > C

Les cellules A (Mac1- CD4- CKIT⁺ Sca 1⁺ Thy1 ⁺/ - LIN⁻)

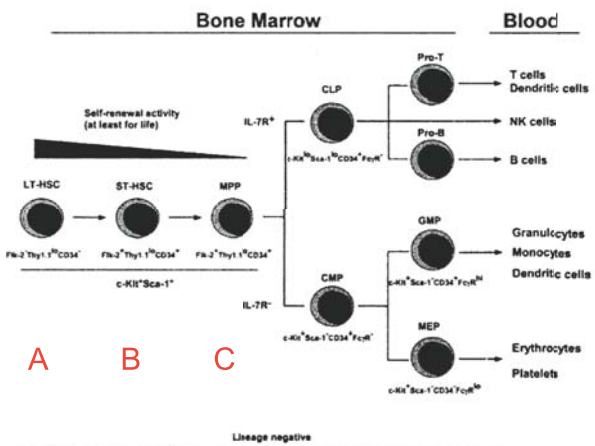
véritables CSHs,

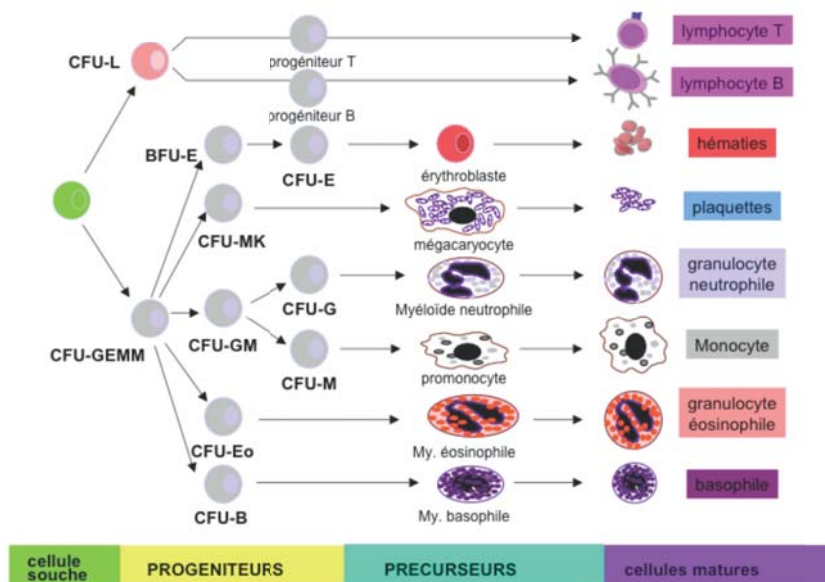
→ seule population capable d'autorenouveaulement

et de **reconstituer** définitivement les territoires hématopoïétiques

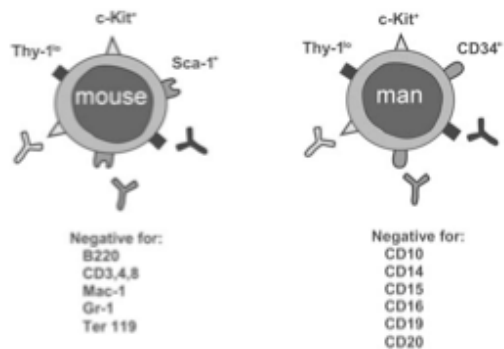
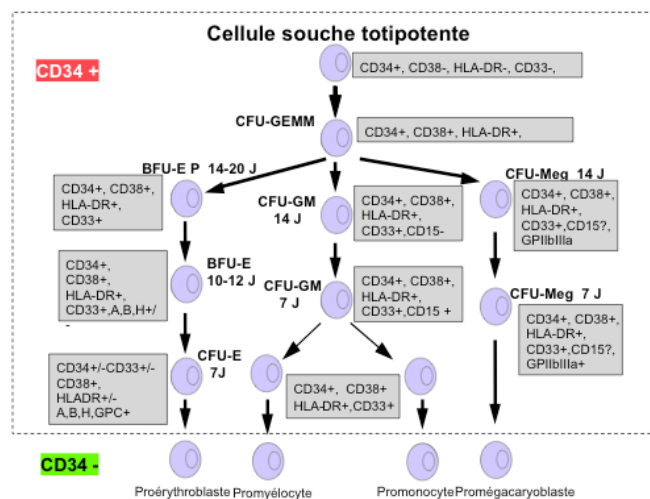
d'une souris irradiée

Compartiments hématopoïétiques





CD34 marqueur des CSHs humaines



Cellules KTLS

Régulation de l'hématopoïèse

Facteurs extrinsèques

1/ rôle du microenvironnement

→ **niche hématopoïétique :**

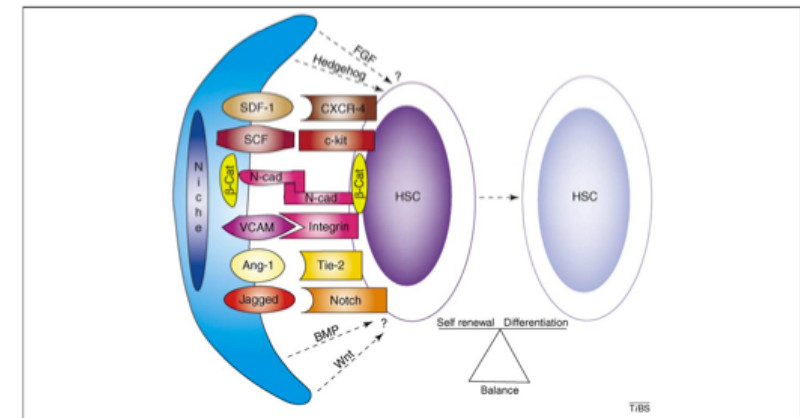
- **ostéoblastes (endostéum)**

- **Cellules stromales**

- cellules endothéliales
- fibroblastes
- cellules adipeuses
- macrophages
- lymphocytes T

- **Matrice extra cellulaire** : réseau de molécules fibreuses et non fibreuses

Les interactions niche hématopoïétique-CSH



TRENDS in Biochemical Sciences, 2006

2/ Rôle des facteurs de croissance ou cytokines

- Glycoprotéines
- production locale **excepté EPO et la TPO** produites à distance respectivement par le rein et le foie
 - **cellules du stroma**
 - **lymphocytes T**
 - **monocytes/macrophages**
- Action **à faible concentration**
- Action **synergique** et parfois **redondante**

2/ Rôle des facteurs de croissance

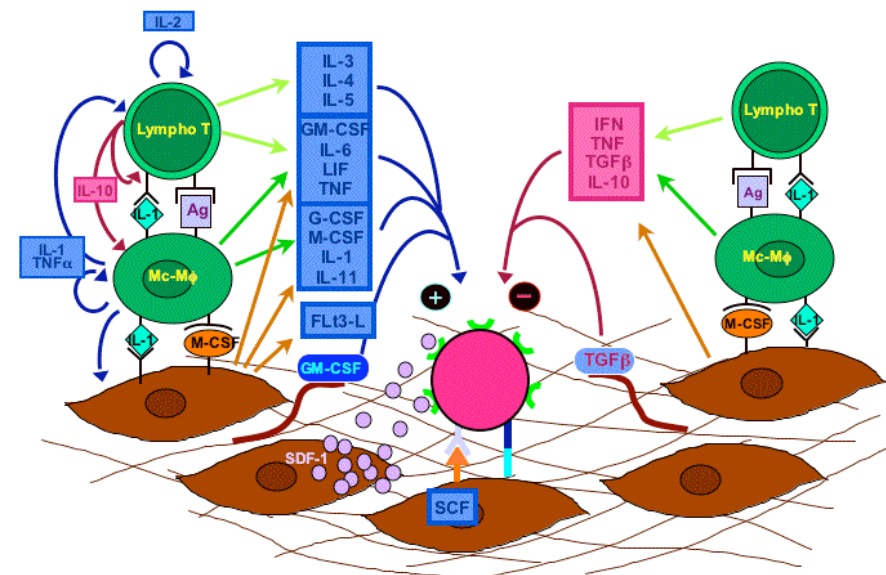
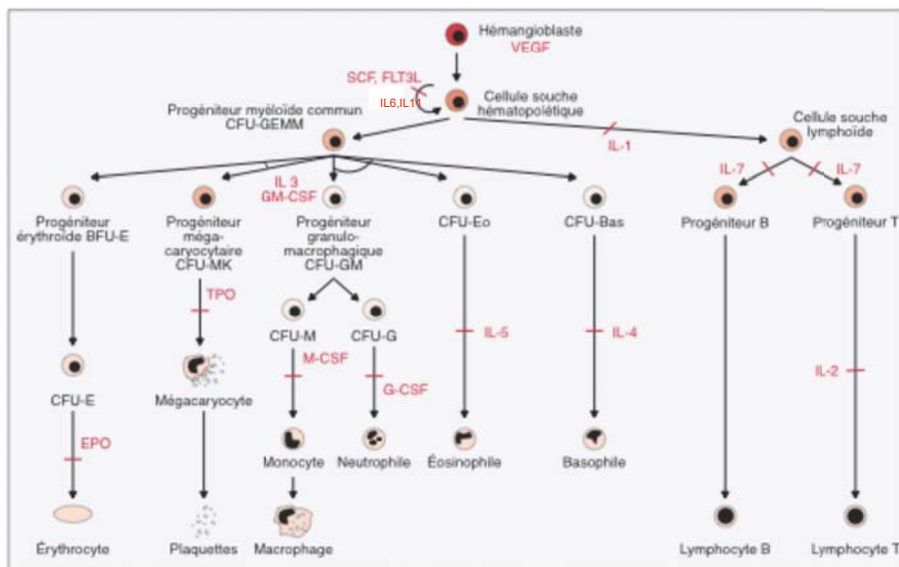
Facteurs synergiques: SCF (Stem Cell factor), FLT3-L, IL1, IL6, IL11, LIF (Leukemia inhibitory factor),

Action sur les CSH: ↑ survie, ↑ nb en cycle, sensibilisent les cellules aux autres FC (expression des récepteurs)

Facteurs multipotents: IL3, GM-CSF (prog. myéloïdes), IL7 (prog. Lymphoïdes)

Action sur les progéniteurs: ↑ survie, action sur plusieurs lignées

Facteurs restreints: G-CSF, M-CSF, EPO, TPO, IL5
Facteurs de différenciation terminale
Facteurs de maturation



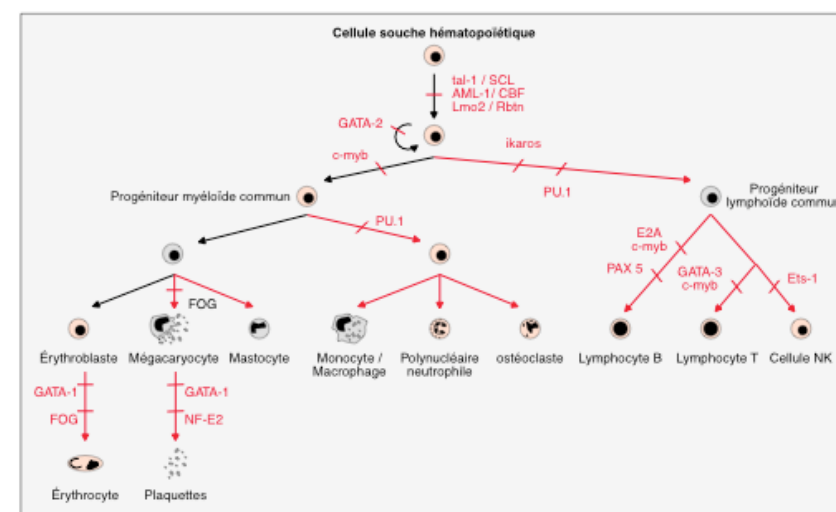
Facteurs intrinsèques

1/ Les facteurs de transcription

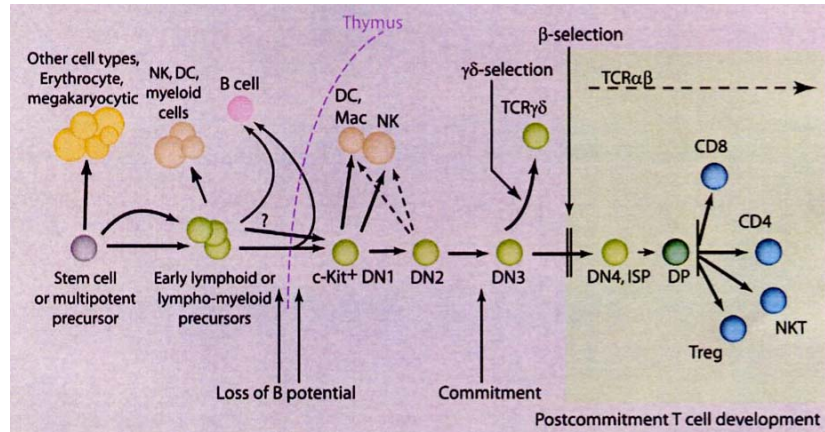
Expériences des souris KO

FACTEUR	TYPE	EXPRESSION	PHENOTYPE K/O
GATA-1	Zinc F	Eryth, Meg, E, Mast	Pas d'erythro/megaK
PU.1	Ets	Pr. myéloïdes, B	Pas de myélop / B
AML1	Runt	C. hématopoïétiques	Pas d'Hématopoïèse
PAX-5	P. box	Cellules B	Pas de cellules B
IKAROS	Zinc F	Cellules T	Pas de C. lymphoïdes

2/ les Facteurs de transcription



La différenciation intrathymique



DP : CD4⁺CD8⁺

DN : CD4⁺CD8⁻

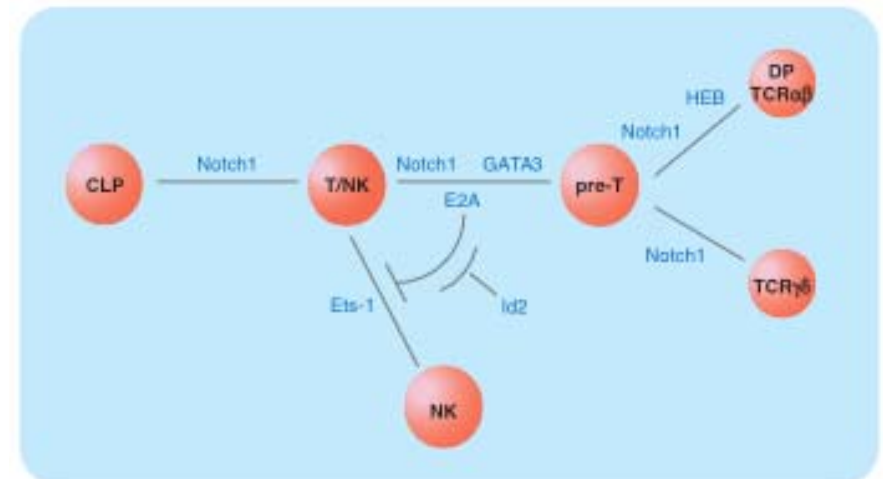
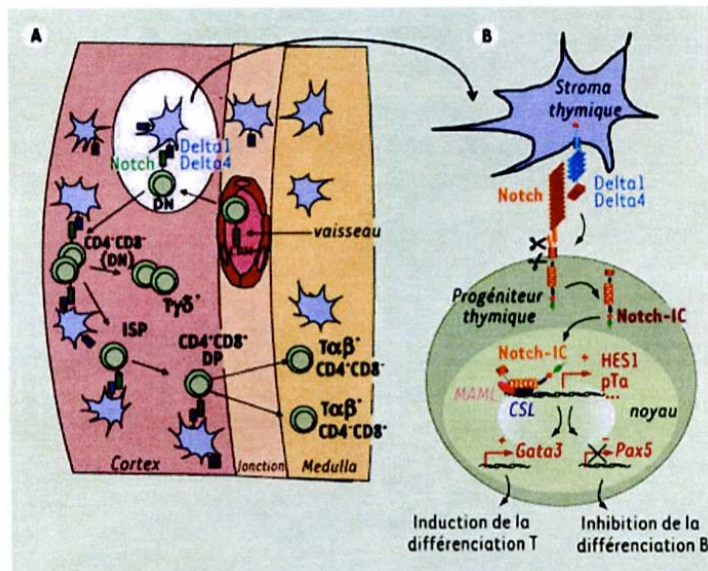
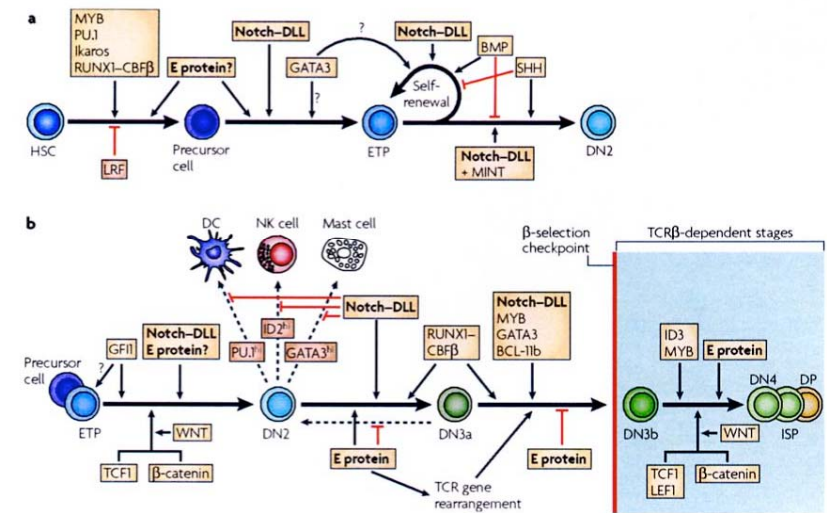
DN1 : CD44⁺CD25⁻

DN2 : CD44⁺CD25⁺

DN3 : CD44⁺CD25⁺

DN4 : CD44⁺CD25⁻

Les facteurs qui régulent la différenciation T



La différenciation B

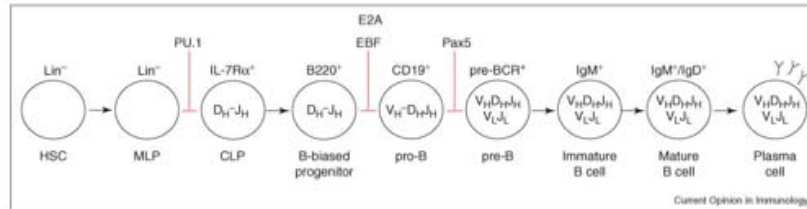


TABLE 1. Transcription Factors Active in Lymphocyte Development*

Factor	Class	Targets	Expression	Phenotype of knockout mutant
Multilineage CBFβ2 = AML1, FEF2aB	Runt	TCRβ, β, γ, δ, RAG1, CD3ε, CD3δ, Igh	Thymocytes, T-cell lines, B-cell lines, myeloid cell lines, pluripotent pre- cursors	Lack of definitive hematopoiesis, as in- ages
c-Myb	Myb	TCRβ, δ, CD4, c-kit, Lck, Bcl-2?	Hematopoietic cells, other embryonic tissues	Multilineage fetal hematopoiesis defect
PU.1	Ets Winged helix	Igh, Ig J chain, Igc, Igh, CD79a	PU.1 mainly in B cells and macro- phages, also precursors and early T cells	Perinatal or perinatal death due to mac- rophage loss; also elimination of B cells and stem cells, early loss, late recovery of T-cell development
Rarg	Zn finger (runtback)	CD3ε, CD3δ, CD8α, TdT, RAG1, Lck proximal?	T cells, thymocytes, early B cells, hematopoietic stem cells, some myeloid precursors	Dominant negative: no lymphoid devel- opment (T, B, NK), some myeloid anomalies. Nul mutation: block of B, NK, T-cell development but post- natal T-cell development recovers
T-cell "specific" TCF-1	HMG	TCRβ, β, δ, CD3ε, CD4, CD8α, L-4, IL-13, Lck proximal?	Thymocytes > mature T cells; many nonhematopoietic embryonic cell types	T-cell development blocked during DN → DP transition
LEF-1	HMG	Same as TCF-1	Pre-B cells, thymocytes, many nonhe- matopoietic embryonic cell types	Lack of B-1 B cell lineage; lack of whis- kers, hair, teeth; neurological defects; most thymic populations appear OK
Sox-4	HMG	CD2, CD3ε	Thymocytes, gonads, and multiple embryonic tissues	Cardiac malformation, early B devel- opment defect; also T lineage slow- down
CREB	bZIP (CREB/ATF)	TCRβ, β, CD2, CD8α	Ubiquitous, also many ubiquitous family members; possible T-cell- specific splice variants	Complete knockout: perinatal death if lung defect; also selective block of fetal TCRβ ⁺ thymocytes, not other hematopoietic cells; dominant nega- tive from T-cell-specific promoter; normal T-cell development, inhibited response to activation
GATA-3	Zn finger (GATA)	TCRβ, β, δ, CD2, CD8α	Hematopoietic precursors, T cells, other embryonic tissues, including midbrain and eye	Severe neurologic abnormalities, gross defects in fetal liver hematopoiesis; T-lineage developmental block in RAG-1 ^{-/-} chimeras
B-cell "specific" E2A (similar target genes possible for HEB or other bHLH)	bHLH class A	RAG1, CD4, CD8α, TCRβ, Igh, Igc, TdT EBF? Pax5?, cyclin-depen- dent kinase and/or p21	Ubiquitous	E2A knockout: severe B-lineage devel- opment arrest, slowdown of T-line- age devel due to early defect; b2A-Nul double heterozygotes show similar effects
EBF	EBF/OH HLH-like	CD79a (Igc, mb-1), A5, VpreB, Pax5?	Olfactory neurons, adipocytes, B-cell precursors	Severe B-lineage developmental arrest
Pax5	Pax Paired, homeo	CD19, A5, VpreB, b2k kinase, Ig J chain, Vh permissive promoters, Igκ	Central nervous system, B cells	Posterior midbrain abnormal, severe B-lineage developmental arrest, no V-DJ joining
Other Ets family	Ets Winged helix	TCRβ, β, γ, δ, Bcl2, CD2, CD3ε, TdT; CD3ε?, CD4, CD8α, Lck, per- forin, many B-cell genes	Many detailed expression patterns for different family members, Ets-1 in mature B & T cells	Ets-1 knockout: T, B cells develop but show accelerated cell death, plasma cell differentiation in response to acti- vation

*Table adapted from Ref. 48.